

# ラット心筋細胞におけるクロールプロマジシンによるナトリウムおよびカリウムチャネルの抑制効果について

著者	今 公弥
号	2818
発行年	1995
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21304">http://hdl.handle.net/10097/21304</a>

氏 名（本籍）	こん 今	きみ 公	や 弥
学 位 の 種 類	博	士	（ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医	第	2 8 1 8 号
学位授与年月日	平 成	7 年	9 月 13 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
最 終 学 歴	昭 和 62 年 3 月 24 日		
	佐賀医科大学医学部医学科卒業		

学 位 論 文 題 目	Inhibition of Na <sup>+</sup> and K <sup>+</sup> Channels by Chlorpromazine in Rat Ventricular Myocytes. (ラット心筋細胞におけるクロールプロマジシンによるナトリウムおよびカリウムチャネルの抑制効果について)
-------------	---

	(主 査)
論 文 審 査 委 員	教授 飯 沼 一 字      教授 西 山 明 徳
	教授 白 土 邦 男

# 論文内容要旨

## 目 的

クロールプロマジン (CPZ) の心血管系副作用の一因は  $\text{Na}^+$  チャネルの抑制にあると考えられる。又, CPZ は膵  $\beta$  細胞の ATP 依存性  $\text{K}^+$  ( $\text{K}(\text{ATP})$ ) チャネルを始めとして様々な  $\text{K}^+$  チャネルをブロックすることが知られている。心筋細胞も  $\beta$  細胞と同種の  $\text{K}(\text{ATP})$  チャネルを持つことから, ラット単離心筋細胞についてホールセルパッチクランプ法を用いて CPZ の心筋  $\text{K}(\text{ATP})$  チャネルに対する抑制効果を研究することを主眼に, あわせて他の  $\text{K}^+$  チャネルや  $\text{Na}^+$  チャネルに対する効果を検討することを目的とした。

## 方 法

単離心筋細胞は, 取り出したラット心臓の大動脈から collagenase, protease を含む溶液を逆行性に灌流する方法により得られた。3–5  $\text{M}\Omega$  の抵抗のパッチピペットを使用した標準的なホールセルパッチクランプ法を用い, 内向き整流  $\text{K}^+$  電流 ( $I_{\text{K1}}$ )・時間非依存性外向き電流及び  $\text{K}(\text{ATP})$  電流の測定のためには 2 秒間に  $-140\text{mV}$  から  $+80\text{mV}$  への電位勾配, 一過性外向き電流 ( $I_{\text{to}}$ ) の測定には  $-80\text{mV}$  から  $+50\text{mV}$  への 400msec 間の電位パルス,  $\text{Na}^+$  電流の測定には  $-80\text{mV}$  から  $0\text{mV}$  への 20msec の電位パルスをかけその電位–電流関係を調べた。パッチピペット内には細胞内液に相当する  $\text{K}^+$  に富み  $\text{Mg-ATP}$  を含む溶液を用い, 灌流液には  $\text{Na}^+$  に富む溶液を使用した。

## 結 果

CPZ はラット単離心筋細胞の  $I_{\text{K1}}$  及び時間非依存性外向き電流を抑制し (それぞれ  $\text{IC}_{50} = 6.1\text{ }\mu\text{M}$ ,  $\text{IC}_{50} = 16\text{ }\mu\text{M}$ ), 静止電位を脱分極させた。さらに,  $I_{\text{to}}$  に対しては頂点電流を減少させるばかりでなく, 早期不活性化を促進した。加えて, モルモットにおいて報告されているように, ラット心筋細胞でも CPZ は不活性化過程に影響を与えずに  $\text{Na}^+$  電流を抑制することが確認された。

10  $\mu\text{M}$  の rilimakalim ( $\text{K}(\text{ATP})$  チャネル開口薬) の投与で単離心筋細胞の外向き電流 (clamp potential  $0\text{mV}$ ) は  $0.23 \pm 0.14\text{nA}$  から  $2.69 \pm 1.47\text{nA}$  へと増加し, これは CPZ によって  $I_{\text{K1}}$ ・時間非依存性外向き電流よりも特異的にブロックされた ( $\text{IC}_{50} = 2.5\text{ }\mu\text{M}$ )。又, FCCP は細胞内の ATP 産生を抑制し心筋細胞の外向き電流を増大させることが知られているが, 今回の研究でも電位固定  $0\text{mV}$  における外向き電流は FCCP により  $0.24 \pm 0.14\text{nA}$  から  $10.55 \pm 3.25\text{nA}$  へ

と増加し、これは、 $50\text{ }\mu\text{M}$  の CPZ により完全に抑制された ( $\text{IC}_{50}=11.5\text{ }\mu\text{M}$ )。

以上のように本研究において最も注目される点は、CPZ の強力な K(ATP) チャネル抑制効果である。rilmakalim によって活性化された K(ATP) 電流に対する CPZ の抑制効果は、臍  $\beta$  細胞株を用いた  $^8\text{Rb}$  の細胞外流出阻止実験で得られた ( $\text{IC}_{50}=1\text{ }\mu\text{M}$ ) ものと同等であった。さらに、代謝抑制により生ずる大きな外向き電流はチャネル開口薬によるものと異なった動態を示すが、K(ATP) チャネル開口によって引き起こされると考えられ、CPZ はこれもブロックし、かつその効力は glibenclamide より強力であると考えられた。

臍  $\beta$  細胞 (K(ATP) チャネル)、ラット神経細胞 ( $\text{I}_{\text{K0}}$ ) での報告と同様に、本研究においてラット心筋細胞でも K(ATP) チャネル・ $\text{I}_{\text{K0}}$  に対する抑制効果が認められた。一方、ラット後根神経節細胞では  $\text{I}_{\text{K1}}$  は CPZ では抑制されず、又、CPZ はラット海馬神経細胞を脱分極させないと報告されており本研究結果とは異なっている。これは、内向き整流  $\text{K}^+$  チャネルに組織特異性のあることを示したものと考えられる。

本研究で示されたように CPZ は心筋細胞の種々のイオン電流 ( $\text{Na}^+$ , K(ATP),  $\text{I}_{\text{K1}}$ , 時間非依存性外向き電流,  $\text{I}_{\text{K0}}$ ) に対し抑制効果を有するが、それは、それぞれ異なった濃度・不活性化様式・回復過程を持つことから、細胞膜に対する非特異的な効果というよりもチャネル蛋白及びチャネル関連構造に対し直接的な作用を有すると考えられる。

ここで示された CPZ による  $\text{Na}^+$  チャネル・ $\text{I}_{\text{K1}}$ ・時間非依存性外向き電流の抑制は、これまで報告された CPZ の心筋細胞に対する活動電位振幅減少・脱分極・活動電位持続時間延長効果を説明しうる。加えて、K(ATP) チャネルの抑制は glibenclamide と同様に虚血条件下における不整脈の発生を防ぐ可能性もある。しかしながら、臨床的に認められる不整脈等の CPZ の副作用は、主に低濃度 ( $\text{IC}_{50}=0.5\text{ }\mu\text{M}$ ) でかつ刺激頻度依存性の認められる  $\text{Na}^+$  チャネル抑制効果によるものであると考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

クロロプロマジン（CPZ）は精神分裂病や躁病などの精神疾患用剤として用いられているが、心血管系に多くの副作用（徐脈、低血圧、心室性不整脈など）を有している。また CPZ はカルモジュリンに高い親和性を有し、カルモジュリン  $\text{Ca}^{2+}$  複合を抑制することが報告されている。さらに、本剤は陰イオンおよび陽イオンの転移に作用することが知られている。また膵  $\beta$  細胞の ATP 依存性  $\text{K}^+$  (K(ATP)) チャンネルを始め、種々の  $\text{K}^+$  チャンネルをブロックすることが知られている。心筋細胞も  $\beta$  細胞と同種の K(ATP) チャンネルを持つことから、本研究ではラット単離心筋細胞について、ホールセルパッチクランプ法を用いて、CPZ の心筋 K(ATP) チャンネルに対する抑制効果を検討した。

CPZ はラット単離心筋細胞の内向き整流  $\text{K}^+$  電流 ( $I_{\text{K1}}$ ) および時間非依存性外向き電流を抑制し、静止膜電位を脱分極させた。さらに、一過性外向き電流 ( $I_{\text{to}}$ ) に対しては頂点電流を減少させるばかりでなく、早期不活性化を促進した。加えて、CPZ は不活化過程に影響を与えずに  $\text{Na}^+$  電流を抑制することが確認された。

rilmakalim (K(ATP) チャンネル開口薬) の投与で単離心筋細胞の外向き電流は増加し、これは CPZ によって  $I_{\text{K1}}$  および時間非依存性外向き電流よりも特異的にブロックされた。

本研究によって最も注目される点は、CPZ の K(ATP) チャンネルへの強力な抑制効果を初めて明らかにしたことである。

膵  $\beta$  細胞 (K(ATP) チャンネル)、ラット神経細胞 ( $I_{\text{to}}$ ) での報告と同様に、本研究において、ラット心筋細胞でも K(ATP) チャンネルおよび  $I_{\text{to}}$  に対する抑制効果が認められた。しかし、ラット後根神経節細胞では  $I_{\text{K1}}$  を CPZ は抑制せず、またラット海馬神経細胞を脱分極させないと報告されており、本研究結果とは異なっている。これは、内向き整流  $\text{K}^+$  チャンネルに組織特異性のあることを示している。

CPZ は心筋細胞の種々のイオン電流に対し抑制効果を有するが、それぞれ異なった濃度、不活化様式、回復過程を持つことから、細胞膜に対する非特異的な効果というよりもチャンネル蛋白およびチャンネル関連構造に対し直接的な作用を有すると考えられた。

この研究で示された CPZ による  $\text{Na}^+$  チャンネル、 $I_{\text{K1}}$  および時間非依存性外向き電流の抑制は、従来報告された CPZ の心筋細胞に対する活動電位振幅減少、脱分極、活動電位持続時間延長効果を説明しうる。

これらの研究結果は、CPZ の心筋への副作用を考える上で、きわめて示唆に富んだ基礎的実験結果であり、医学博士の学位に値するものと考ええる。